

Aus dem Pathologisch-Anatomischen Institut
(Direktor: Professor Dr. med. V. Becker)
und dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie,
Lehrstuhl für Angewandte Chemie,
(Direktor: Professor Dr. O. Dann)
der Universität Erlangen-Nürnberg

**Histologische Untersuchungen
an Gewebsformen der Nagetiermalaria
(Plasmodium berghei yoelii)
in normalen und besonders empfänglichen
NMRI-Mäusen**

**Inaugural - Dissertationen
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg**

vorgelegt von
Peter-Michael Brunner
aus Weiden

Aus dem Pathologisch-Anatomischen Institut
(Direktor: Professor Dr. med. V. Becker)
und dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie,
Lehrstuhl für Angewandte Chemie,
(Direktor: Professor Dr. O. Dann)
der Universität Erlangen - Nürnberg

**Histologische Untersuchungen
an Gewebsformen der Nagetiermalaria
(Plasmodium berghei yoelii)
in normalen und besonders empfänglichen
NMRI-Mäusen**

**Inaugural - Dissertationen
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg**

vorgelegt von
Peter-Michael Brunner
aus Weiden

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. med. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. med. H. Schmidt

Korreferent: Prof. Dr. med. V. Becker

Tag der mündlichen Prüfung:

02. MRZ. 1981

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methode	4
Ergebnisse	
der experimentellen Untersuchungen	7
der histologischen Untersuchungen	12
Diskussion der Ergebnisse	20
Zusammenfassung	28
Tabellen	31
Literaturverzeichnis	35
Abbildungen	37
Lebenslauf	38



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546215_0087

E I N L E I T U N G

Plasmodium berghei yoelii, (LANDAU und KILLICK-KENDRICK), ist eine Unterart des 1948 von VINCKE und LIPS im ehemaligen Belgisch-Kongo entdeckten Plasmodium berghei. Dieser in Baumratten der Gattung Thamnomys schmarotzende Malariaerreger hat für die Malariaforschung eine besondere Bedeutung erlangt, weil es die erste Plasmodienart ist, die sich auf kleine Labortiere wie Maus und Ratte übertragen läßt (GARNHAM, 1966). Bis zur Entdeckung von Plasmodium berghei war die experimentelle Malariaforschung auf Vogel malaria angewiesen, da die Malariaerkrankung des Menschen durch Erreger hervorgerufen wird (Plasmodium malariae, P. vivax, P. falciparum), die sich nur auf Hominiden und einige Neuweltaffen übertragen lassen (GARNHAM).

Nach der Entdeckung des Nagetierplasmodium P. berghei und seiner Unterarten, die in den darauffolgenden Jahren in benachbarten Gebieten aus Thamnomysarten isoliert wurden, hat es noch über ein Jahrzehnt gedauert, bis dieser Malariaerreger mit Erfolg experimentell auch durch Mücken übertragen werden konnte (VANDERBERG, NUSSENZWEIG und MOST). Die meisten aus Baumratten isolierten Stämme verloren nach wenigen Blutpassagen in Labornagern die Fähigkeit, für Mücken infektiöse Gam-

metozysten auszubilden. Erst in den 60iger Jahren gelang es, durch Anpassung an die mikroklimatischen Bedingungen des in Bodennähe lebenden natürlichen Überträgers Anopheles dureni, der sich unter Laborbedingungen nicht züchten läßt, in anderen Anophelesarten geeignete Zwischenwirte zu ermitteln (VANDERBERG und YOELI). Es zeigte sich, daß entgegen den ursprünglichen Erwartungen, Plasmodium berghei und seine Verwandten gegen Temperaturen über 25° Celsius sehr empfindlich sind und sich in den Überträgermücken bei hohen Temperaturen nicht entwickeln können (VANDERBERG und YOELI). Aber auch nach Kenntnis der optimalen exogenen Faktoren wie Temperatur und Feuchtigkeit blieb die Übertragung von Nagetiermalaria durch Mücken bzw. mit den sich in diesen entwickelnden Sporozoiten immer ein mit großen Risiken und Unwägbarkeiten behaftetes Unternehmen (GARNHAM, 1971). Erst in den letzten Jahren ist es auch in Erlangen gelungen, die zyklische Übertragung unter standardisierten Bedingungen im Routinemaßstab im Labor durchzuführen. Als entscheidender Faktor hat sich hierbei die Wahl eines geeigneten Mäusestammes von besonderer Empfänglichkeit erwiesen (FINK, pers. Mit.).

In dem Biologischen Prüfungslaboratorium des Instituts für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Erlangen-Nürnberg wurde in den letzten Jahren durch Selektion ein besonders empfänglicher Mäusestamm herausgezüchtet, der sich durch Sporozoiten besonders leicht infizieren läßt. In noch unveröffentlichten Untersuchungen (FINK, pers.) erwiesen sich diese aus NMRI/Kisslegg-Mäusen herausgezüchteten Tiere ca. 100mal empfänglicher als die Ausgangstiere. Diese höhere Empfänglichkeit wurde experimentell ermittelt über die mittlere infektiöse Dosis (ID 50), d.h. jene Sporozoitenzahl, die notwendig ist, um bei der Hälfte der Versuchs-

tiere mit hoher Wahrscheinlichkeit (95 %) eine Infektion hervorzurufen. Dabei wird unter erfolgreicher Infektion das Auftreten von erythrozytären Formen des Parasiten im peripheren Blut verstanden.

Durch das Auftreten von Parasiten im peripheren Blut allein läßt sich jedoch nicht die Frage entscheiden, ob die höhere Empfänglichkeit des herausgezüchteten Mäusestammes allein darauf beruht, daß im Verhältnis zum Ausgangsstamm mehr Sporozoiten ihre Entwicklung in den Leberzellen erfolgreich beenden, oder ob gleichzeitig auch eine wesentlich höhere Zahl an sogenannten Merozoiten während der exoerythrozytären Schizogonie gebildet wird. Diese Frage kann jedoch durch histologische Untersuchung der sich aus den Sporozoiten entwickelnden Leberformen beantwortet werden. Es wurden daher Experimente durchgeführt, in denen eine Reihe von Mäusen des empfindlichen und des relativ resistenten Mäusestammes mit einer abgestuften Zahl von Sporozoiten inokuliert wurden, um die mittlere infektiöse Dosis zu bestimmen. Gleichzeitig wurde einzelnen Tieren aus beiden Gruppen eine sehr hohe Zahl von Sporozoiten verabreicht, um zu einer nachweisbaren Zahl von Gewebsformen in der Leber zu gelangen. Während zur Bestimmung der ID 50 das Auftreten einer Parasitämie abgewertet wurde, wurde bei den zur histologischen Untersuchung kommenden Tieren vor Ablauf der exoerythrozytären Phase, die bei Plasmodium berghei yoelii ca. 48 Stunden dauert (LANDAU und KILLICK-KENDRICK), die Leber entnommen und untersucht. Über die Ergebnisse dieser Untersuchungen wird hier berichtet.

M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

Als Erreger wurde der Stamm 17 X von Plasmodium berghei yoelii verwendet, der 1966 von LANDAU und KILLICK-KENDRICK beschrieben wurde. Dieser Stamm wurde im Jahr 1966 von London nach Erlangen gebracht und seither in ununterbrochener Folge zyklisch übertragen.

Als Überträger diente ein alter Laborstamm von Anopheles stephensi, der gleichfalls aus der London School of Hygiene and Tropical Medicine aus dem Labor von Prof. Dr. P. C. GARNHAM bezogen wurde. Die Charakteristik dieses Stammes, seine Übertragbarkeit sowie die in Mäusen und Ratten resultierenden Infektionen sind von WERY ausführlich beschrieben worden. Über die Verwendung dieses Erregers und der aus Sporozoiten resultierenden Infektion zur Prüfung von Arzneimitteln und von anderen die Infektiosität der Sporozoiten und die Entwicklung der Gewebsformen beeinflussenden Faktoren hat FINK (1970) berichtet.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden ausschließlich weibliche NMRI/Kisslegg-Mäuse bzw. die aus ihnen herausgezüchteten besonders empfänglichen Tiere der Generationen F 9 verwendet. Von dem selektierten Stamm wurden auch männliche Tiere in den Versuchen verwendet. Die Mäuse wurden in Makrolon^R-Käfigen von ca. 400 qcm Bodenfläche in Gruppen von 5 - 8 Tieren gehalten. Sie wurden mit Altromin^R-Standarddiät gefüttert, die wie Trinkwasser ad libitum zur Verfügung stand. Die Tiere wurden bei einer Raumtemperatur von 23 - 25° Celsius und einem Tag-Nacht-Rhythmus von 12 Stunden gehalten.

Zur Gewinnung der Sporozoiten ließ man frisch geschlüpfte Anophelen-Weibchen an parasitierten Mäusen saugen, die zahlreiche Gametozyten im peripheren Blut aufwiesen. Der Infektionserfolg in den Mücken wurde durch Sektion einer Probe aus der jeweiligen Mückengruppe bestimmt. Nur solche Mückengruppen wurden bis zum Auftreten der Sporozoiten in den Speicheldrüsen weiter gehalten, die bis zum 10. Tag p.i. zumindest einen 50%igen Befall des Mitteldarms aufwiesen. Die parasitierten Mücken wurden bei einer Raumtemperatur von 22 - 24° Celsius, 75 - 95 % relativer Feuchte, und einem Rhythmus von 14 Stunden Tag und 10 Stunden Nacht gehalten.

Zur Gewinnung der Speicheldrüsen wurden die parasitierten Mücken zwischen dem 21. und 28. Tag nach der Blutmahlzeit durch Schütteln in einem Glasröhrchen immobilisiert. Die Speicheldrüsen wurden nach den üblichen Methoden durch Sektion des Thorax gewonnen und mit einer Pipette in einem Medium aufgesogen, das aus einer Mischung von Kälberserum und Aqua dest. im Verhältnis 2:1 bestand. Es wurden für einen Versuch in der Regel zwischen 80 und 120 Mücken in dieser Weise präpariert. Die gewonnenen Speicheldrüsen wurden in einem Gewebe-Homogenisator (THOMAS, U.S.A.) zerkleinert. Der Gehalt der Suspension an den so gewonnenen Sporozoiten wurde durch Auszählen einer Probe in einer Blutzählkammer unter einem Mikroskop mit Phasenkontrast bestimmt. Durch Verdünnung der sporozoitenhaltigen Suspension mit dem beschriebenen Medium konnte die für die Infektion der Versuchstiere gewünschte Sporozoitenzahl erreicht werden. Die Verdünnung wurde so gewählt, daß die gewünschte Sporozoitenzahl in 0,2 ml Medium pro Maus appliziert werden konnte. Die Inokulation der Sporozoiten erfolgte durch intravenöse Injektion in eine Schwanzvene.

Zur Berechnung der mittleren infektiösen Dosis wurde das Auftreten von Parasiten im peripheren Blut in Ausstrichen bestimmt, die vom 4. Tag nach der Inokulation an aus Schwanzblut gewonnen und nach Giemsa gefärbt wurden. Die Bestimmung der ID 50 geschah durch ein Computerprogramm in Anlehnung an die Methode von CAVALLI-SFORZA (1974) zur Schätzung der Anzahl infektiöser Einheiten.

Für die histologischen Untersuchungen wurden die Lebern der mit einer großen Zahl von Sporozoiten infizierten Tiere 42 - 46 Stunden nach der Inokulation entnommen. Die Tiere wurden hierzu durch Genickschlag getötet und die entnommenen Lebern in Carnoy fixiert. Die Organe wurden nach den üblichen histologischen Methoden (ROMEIS) in Paraffin eingebettet, ca. 4 u dick geschnitten und nach Giemsa gefärbt. In einigen Fällen wurden Serienschnitte angefertigt, um die Gesamtzahl der Gewebsformen zu bestimmen. In anderen Fällen wurde nur jeder 10. Schnitt auf den Objektträger aufgezogen und gefärbt. Weitere Einzelheiten sind bei den Ergebnissen beschrieben.

ERGEBNISSE

1. Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen

Alle Untersuchungen wurden mit der Generation F9 der selektionierten Mäuse durchgeführt. Die mittlere infektiöse Dosis (ID 50) wurde im Vergleich zu normalen weiblichen NMRI/Kisslegg-Mäusen bestimmt. Es wurden zwei verschiedene Experimente durchgeführt.

Im 1. Versuch (266/2-6) wurden die selektionierten Mäuse mit 10, 3 und 1 Sporozoiten/Maus intravenös inokuliert. Es wurden sowohl männliche wie weibliche Tiere mit einem Gewicht von 23 - 25 g verwendet. Parallel dazu erhielten NMRI/Orig. Kisslegg-Mäuse 1.000, 100 und 10 Sporozoiten/Maus i.v.. Zusätzlich zu diesen Tieren wurden sowohl normale NMRI wie auch F9-Tiere mit 10.000 Sporozoiten intravenös inokuliert. Diese Tiere wurden für die histologischen Untersuchungen verwendet.

Die Ergebnisse dieses Versuchs sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Es wurden insgesamt 42 männliche und 26 weibliche, also insgesamt 68 F9-Tiere und 26 NMRI/Orig. Kisslegg-Mäuse inokuliert. Mit nur 10 Sporozoiten pro Maus ließen sich von den F9-Tieren über 90 % mit Erfolg infizieren. Ein vergleichbarer Infektionserfolg ließ sich bei den Orig./NMRI-Mäusen erst mit 1.000 Sporozoiten pro Maus erreichen. Bei einem Inokulum von weniger als 10 Sporozoiten/Maus war der Infektions-

erfolg nicht mehr eindeutig mit der Sporozoitenzahl korreliert. Dies zeigt sich darin, daß zum Teil mit 1 Sporozoit/Maus eine proportional höhere Zahl von Tieren erfolgreich infiziert werden konnte als mit 3 Sporozoiten/Maus.

Die Berechnung der sogenannten "infective units" (Vertrauensbereich) ergab für die männlichen F9-Tiere 1,98 (1,14 - 2,83), für die weiblichen F9-Tiere 4,97 (2,03 - 7,91). Um die Hälfte der männlichen Tiere mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit erfolgreich zu parasitieren, wären also im Durchschnitt 2, bei den weiblichen F9-Tieren ca. 5 Sporozoiten/Maus notwendig gewesen. Dies bedeutet mit anderen Worten, daß bei den männlichen Tieren jeder 2., bei den weiblichen aber nur jeder 5. Sporozoit zur Entwicklung gelangte. Die Unterschiede sind statistisch signifikant.

Sehr viel mehr Sporozoiten wurden benötigt, um bei den Orig. NMRI/Mäusen zu einem vergleichbaren Infektionserfolg zu gelangen. Die Berechnung der "infective units" ergab hier einen Wert von 338 (96 - 580). Im Durchschnitt wären nach den Ergebnissen dieses Experiments 300 Sporozoiten notwendig, um mit 95 %iger Wahrscheinlichkeit die Hälfte der Tiere erfolgreich zu parasitieren. Das bedeutet, daß hier nur jeder 300.ste Sporozoit seine Entwicklung erfolgreich durchführen konnte.

Bei Zusammenfassung des Infektionserfolges von männlichen und weiblichen F9-Tieren gibt die Berechnung der "infective units" 2,9 (1,9 - 3,9), d.h. daß im Durchschnitt der beiden Versuchsgruppen bei den F9-Tieren ca. jeder 3. Sporozoit zur Infektion führte.

Vergleichen wir den Infektionserfolg in den beiden Mäusegruppen, so ergibt sich bei Vergleich der weiblichen F9-Tiere mit den weiblichen Orig. NMRI/Mäusen, daß letztere bezogen auf die zur Entwicklung gelangenden Sporozoiten ca. 60mal weniger empfänglich waren. Beim Vergleich der Durchschnittswerte der weiblichen und männlichen F9-Tiere mit den weiblichen Tieren der Ausgangsrasse betrug die Empfänglichkeit der letzteren sogar nur ca. einen hundertsten Teil der selektionierten Tiere.

In einem 2. Versuch (266/14 - 16) wurden 30 männliche und 29 weibliche F9-Tiere sowie 24 NMRI/Orig. Kisslegg-Mäuse intravenös mit abgestuften Dosen von Sporozoiten inokuliert. Nachdem beim vorausgegangenen Experiment noch 1 Sporozoit pro Maus in einer verhältnismäßig großen Anzahl von Tieren zu einem Infektionserfolg geführt hatte, wurde in diesem Versuch eine Abstufung von 10, 3, 1 und 0,3 Sporozoiten/Maus für die F9-Tiere gewählt, während die Orig. NMRI/Mäuse wieder mit 1.000, 100 und 10 Sporozoiten/Tier inokuliert wurden. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Insgesamt war der Infektionserfolg in diesem Versuch nicht so hoch wie in dem 1. Versuch und der Unterschied zwischen der F9-Generation und den Tieren der Ausgangsrasse nicht so ausgeprägt. Erneut war keine echte Korrelation zwischen der Zahl der inokulierten Sporozoiten und dem Infektionserfolg bei weniger als 10 Sporozoiten pro Versuchstier mehr gegeben, so daß sich z.B. bei den weiblichen Tieren mit 0,3 Sporozoiten/Maus proportional

mehr Tiere als mit 1 Sporozoiten/Maus parasitieren ließen. Infolgedessen ist auch der Vertrauensbereich für die berechneten "infective units" breiter als in dem vorangegangenen Experiment. Auch der im vorangegangenen Versuch beobachtete Unterschied in der Empfänglichkeit von männlichen und weiblichen F9-Tieren ließ sich in diesem Versuch nicht feststellen.

Die Berechnung der "infective units" ergab für die männlichen F9-Tiere 5,4 (2,1 - 8,8), für die weiblichen F9-Tiere 4,6 (1,9 - 7,2) und für die weiblichen Orig. Tiere 45,8 (14,2 - 77,4). Das bedeutet, daß bei den F9-Tieren im Durchschnitt jeder 5., bei den Orig./NMRI-Mäusen jedoch nur jeder 50.ste Sporozoit zur Entwicklung kam. Damit betrug der Unterschied in der Empfänglichkeit der beiden Mäusesorten nur das ca. Zehnfache, während er in dem vorangegangenen Experiment das über Hundertfache betragen hatte.

Gleichzeitig wurden auch bei diesem Experiment wieder einige Tiere mit je 10.000 Sporozoiten inokuliert für die histologische Untersuchung der Leberformen.

Die mit der gleichen F-Generation erzielten Ergebnisse im Vergleich mit den Orig. NMRI/Mäusen sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt. Insgesamt wurden in beiden Versuchen 127 Tiere der F9-Generation inokuliert und 50 Orig. NMRI/Mäuse. Die Berechnung der "infective units" aus den Ergebnissen beider Versuche ergibt für die männlichen Tiere 3,0 (2,0 - 4,0), für die weiblichen F9-Tiere 4,8 (2,8 - 6,7) und bei Zusammenfassung beider Geschlechter 3,7 (2,7 - 4,6). Die Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren sind bei Zusammenfassung

beider Experimente in der Auswertung nicht mehr signifikant, wenngleich noch immer ein Trend hinsichtlich einer höheren Empfänglichkeit der männlichen Tiere deutlich wird. Im Durchschnitt war bei den F9-Tieren aufgerundet ca. jeder 4. Sporozoit in seiner Entwicklung erfolgreich. Bei den Orig. NMRI/Mäusen ergab die Berechnung der "infective units" einen Wert von 159 (78 - 240), das heißt, hier konnte im Durchschnitt beider Versuche nur jeder 160. Sporozoit seine Entwicklung erfolgreich beenden.

Vergleichen wir die Empfänglichkeit der beiden Mäusestämme, so können wir feststellen, daß zur erfolgreichen Infektion der Orig. Tiere im Durchschnitt ca. 40mal mehr Sporozoiten benötigt werden als zur Infektion der über 9 Generationen herausgezüchteten besonders empfänglichen Tiere.

Nachdem dieser Unterschied in beiden Versuchen statistisch signifikant erhärtet werden konnte, sollte die histologische Untersuchung der in beiden Mäusestämmen sich entwickelnden Leberformen darüber Aufschluß geben, ob die unterschiedliche Empfänglichkeit allein auf eine größere Zahl an sich erfolgreich weiterentwickelnden Sporozoiten zurückzuführen ist, oder ob darüberhinaus auch eine größere Anzahl an Merozoiten gebildet wird.

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchungen

Zur histologischen Untersuchung kamen die Lebern von insgesamt 6 Tieren, die parallel zu dem Versuch Nr. 1 mit 10.000 Sporozoiten pro Maus intravenös inokuliert worden waren. Vier Tiere, je zwei männliche und zwei weibliche, waren hoch empfängliche Tiere der Generation F9, zwei Tiere waren weibliche Orig. NMRI/Mäuse. Nach den üblichen histologischen Verfahrenstechniken wurden von den Lebern 4 u dicke Schnitte angefertigt. Um möglichst ausgereifte Gewebsformen zu erhalten, wurden die Lebern erst 2-3 Stunden vor der Vollendung des ca. 46 Stunden dauernden präerythrozytären Schizogonienzyklus entnommen und nach Carnoy (ROMEIS) fixiert. Bei Anwendung der für Schnitte üblichen modifizierten Giemsa-Färbung (ROMEIS) waren die Gewebsformen in den Schnitten schon bei schwächerer Vergrößerung (Objektiv 10fach) zu erkennen (Abb. 1).

Die histologische Untersuchung der Schnitte wurde nach 2 Gesichtspunkten vorgenommen:

1. Es wurde versucht, die Zahl der eindeutig als Gewebsformen erkennbaren Parasiten zu bestimmen, und
2. evtl. morphologische Unterschiede zwischen den Gewebsformen in normalen NMRI/Mäusen und in herausgezüchteten Tieren aufzufinden.

Um die Zahl der Gewebsformen zu bestimmen, wurden die Lebern beim Schneiden so orientiert, daß möglichst großflächige Schnittstellen entstanden. Jeder 10. Schnitt

wurde auf einen Objektträger aufgezogen und nach dem Entparaffinieren und Durchlaufen der Alkoholreihe nach Giemsa gefärbt.

Bereits WERY hatte festgestellt, daß die Gewebsformen in der Leber der Maus relativ gleichmäßig verteilt sind, d.h. daß es keine bevorzugten Lokalisationspunkte gibt.

Zu Beginn der Untersuchungen wurden zunächst nur 20 - 30 Schnitte auf das Vorhandensein von Gewebsformen überprüft und ausgezählt. Es zeigte sich jedoch, daß bei niedriger Anzahl an Formen, insbesondere bei den Orig. NMRI/Mäusen, nicht in allen Fällen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Mäusestämmen erkennbar waren. So fanden sich z.B. bei Maus Nr. 39 SC 24 (F9) in 23 Schnitten 7 Gewebsformen, während bei der Maus 39 SC 1 (NMRI/Orig.) in 24 Schnitten 9 Gewebsformen zu finden waren. Von diesen waren jedoch 3 eindeutig als degenerierte Formen anzusprechen, während sich bei den 7 aufgefundenen Formen des F9-Tieres keine Degenerationszeichen erkennen ließen. Es wurden deshalb bei den anderen Tieren alle vorhandenen aufgezogenen Schnitte ausgezählt. Nachdem jeder 10. Schnitt aufgezogen worden war, konnten zwischen 68 und 84 großflächige Schnitte pro Leber ausgewertet werden.

Die Ergebnisse der Auszählung sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Um die Zahlen besser vergleichen zu können, wurde die Anzahl der aufgefundenen Gewebsformen zur Zahl der ausgezählten Schnitte ins Verhältnis gesetzt, wobei die degenerierten Formen einmal miteingerechnet, einmal aber vorher abgezogen wurden.

Insgesamt wurden von den F9-Tieren 245 Leberschnitte ausgewertet. In diesen fanden sich insgesamt 157 Gewebsformen, von denen 9 eindeutig degeneriert waren (5,7 %). Von den Lebern zweier normaler NMRI-Mäusen wurden 24 bzw. 70 Schnitte ausgewertet, die 9 bzw. 8 Gewebsformen enthielten, von denen hinwiederum 3 bzw. 5 eindeutige Zeichen der Degeneration zeigten (Abb. 2, verklumptes Chromatin, Vakuolenbildung).

Auf den einzelnen Schnitt umgerechnet fanden sich bei den F9-Tieren 0,64 Gewebsformen pro Schnitt, bei den Orig. NMRI/Mäusen 0,18. Bei Ausscheiden der degenerierten Formen lauten die entsprechenden Werte 0,6 Formen pro Schnitt bei den F9-Tieren und 0,09 Formen pro Schnitt bei den Orig. NMRI/Tieren. Nach dem histologischen Bild kamen folglich bei diesem Versuch im Durchschnitt ca. 6 - 7 mal mehr Sporozoiten in den F9-Mäusen zur Entwicklung als in den Orig. NMRI/Mäusen.

Eine genauere Analyse der in Tabelle 4 dargestellten Befunde zeigt ferner, daß die Anzahl der degenerierten Formen bei den NMRI/Mäusen mit 33 bzw. 62 % der ausgezählten Formen bis zu 10mal höher ist als bei den F9-Tieren. Daraus folgt, daß bei den NMRI/Mäusen offensichtlich nicht nur von Anfang an weniger Sporozoiten zur Entwicklung gelangten, sondern daß selbst von den nach 42 Stunden noch auffindbaren Formen ein großer Teil die Entwicklung bis zu den fertigen Merozoiten nicht mehr vollenden konnte.

Eine Betrachtung der Einzelwerte der verschiedenen Tiere zeigt ferner, daß trotz der über 9 Generationen hinweg erfolgten Inzucht und Selektion auf hohe Empfänglichkeit eine erhebliche Variabilität dieser Eigenschaft

besteht. So stimmen zwar die beiden Tiere 39 Sc 4 und 39 Sc 25 mit je 0,47 Gewebsformen pro Schnitt in ihrer Empfänglichkeit überein.

Andererseits aber erweist sich das Tier 39 Sc 7 mit ca. 1 Gewebsform pro Schnitt über dreimal so gut für die Entwicklung der Sporozoiten geeignet als das Tier 39 Sc 24, in dem nur 0,3 Gewebsformen pro Schnitt auftraten, d.h. also nur weniger als ein Drittel der Sporozoiten im Vergleich zum vorgenannten Tier zur Weiterentwicklung kamen.

Diese Variabilität in der Empfänglichkeit zeigt sich schon in den Orig. NMRI/Mäusen, wobei höher empfindliche Tiere wie z.B. 39 Sc 1 mit 0,25 vollentwickelten Formen pro Schnitt fast an die Eignung herausgezüchteter Mäuse (39 Sc 24) herankommen.

Zur Bestimmung der Größe der Gewebsformen wurden die jeweils größten in den verschiedenen Schnitten beobachteten Gewebsformen bei 250facher Vergrößerung unter dem Mikroskop vermessen. Da die Gewebsformen der Nagetiermalaria nahezu sphärische Gestalt besitzen, genügte es, den einfachen Durchmesser einer Gewebsform zu bestimmen. Der Durchmesser von zehn so vermessenen 46 Stunden alten Gewebsformen betrug 32 ± 3 Mikrometer und liegt damit im Bereich der von LANDAU und KILLICK-KENDRICK für Plasmodium berghei yoelii angegebenen Werte. Der größte beobachtete Durchmesser von ca. 40 Mikrometern wurde sowohl in Gewebsformen von Orig. NMRI/Mäusen

als auch bei Tieren der F9-Generation beobachtet. Eine quantitative Auswertung von Größenunterschieden von Gewebsformen beider Mäuselinien war im Rahmen dieser Arbeit nicht beabsichtigt. Sie setzt die Anfertigung einer großen Anzahl von Serienschnitten voraus, die das völlige Ausmessen verschiedener Formen über zahlreiche Schnitte hinweg erlaubt.

Auch die Zahl der Merozoiten, die in den Gewebsformen gebildet wurde, ließ sich in unseren Schnitten nicht eindeutig für einen Vergleich zwischen den beiden Mäusestämmen heranziehen. Nachdem die Lebern ca. 46 Stunden nach der Inokulation der Sporozoiten entnommen wurden, waren nur wenige Gewebsschizonten zur völligen Ausreifung gelangt. Nach LANDAU und KILICK-KENDRICK werden in den Gewebsschizonten von Plasmodium berghei yoelii ca. 8.000 - 12.000 Merozoiten gebildet. Diese kommen zwischen 48 - 52 Stunden nach der Inokulation der Sporozoiten zur Ausreifung. Um einen quantitativen Vergleich der in den verschiedenen Mäusestämmen gebildeten Merozoiten durchzuführen, hätten die Lebern daher zu einem späteren Zeitpunkt entnommen werden müssen.

Zu diesem Zeitpunkt wäre dann aber ein Vergleich der Anzahl der gebildeten Gewebsformen nicht mehr möglich gewesen, da z.B. nach 50 Stunden ein Teil der Gewebsschizonten bereits zerfallen und damit nicht mehr nachweisbar gewesen wäre. Nachdem sich in den vorangegangenen Untersuchungen gezeigt hatte, daß der Unterschied in der Empfänglichkeit bereits hinreichend durch die geringere Zahl der in den Orig. NMRI/Mäusen zur voll-

ständigen Entwicklung gelangenden Sporozoiten erklärt werden konnte, wurde daher auf die Durchführung eines besonderen Versuches zur Bestimmung der Anzahl der in den Gewebsformen heranreifenden Merozoiten verzichtet.

Zur Feststellung der Gesamtausdehnung einer Leberform wurden in einem besonderen Versuch je eine Maus des Stammes Orig. NMRI-Kisslegg (40 Sc 25) und der Generation F9 (40 Sc 9) mit je 60.000 Sporozoiten intravenös inokuliert. Den Tieren wurde die Leber wie in den vorausgegangenen Versuchen beschrieben 46 Stunden später entnommen, fixiert und aufgearbeitet. Von beiden Lebern wurden Schnittserien von 4 Mikrometerdicke angefertigt und aufgezogen. Infolge der hohen Dichte an Gewebsformen ließen sich in beiden Fällen mehrere Formen vom Anschnitt bis zum Ende verfolgen. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß die Gewebsformen erst dann eindeutig als solche anzusprechen waren, wenn sie die Größe einer Leberzelle erheblich überschritten hatten. Eine solchermaßen identifizierte Gewebsform ließ sich dann durch 6 - 8 aufeinanderfolgende Schnitte hindurch verfolgen. Der so bestimmte Durchmesser einer Gewebsform läge damit bei 24 - 32 Mikrometern. Nachdem für die Bestimmung der Zahl der Gewebsformen in den vorangegangenen Versuchen nur jeder zehnte, vier mikrometerdicke Schnitt ausgewertet wurde, ist ausgeschlossen, daß ein und dieselbe Form mehrfach gezählt wurde.

Der Unterschied in der Ausdehnung zu den oben angegebenen Meßwerten erklärt sich durch die Tatsache, daß am

Anfang und am Ende einer solchen Schnittserie jeweils 1 - 2 Schnitte liegen, auf denen die Gewebsform als solche noch nicht oder nicht mehr erkannt werden kann.

Die Morphologie der Gewebsformen von der Nagetierplasmodien ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen (GARNHAM, 1966). In Übereinstimmung mit diesen Untersuchungen wurden auch hier sowohl in Orig. NMRI/Mäusen wie auch in F9-Tieren eine intrazelluläre Lagerung der Gewebsschizonten in den Leberzellen beobachtet. Eine Bevorzugung bestimmter Abschnitte des Leberläppchens (zentral oder peripher) war nicht festzustellen.

In verschiedenen Fällen lagen jedoch die Gewebsformen innerhalb von gefäßähnlichen Hohlräumen, wobei stets ein schmaler optisch leerer Freiraum zwischen der Wand der Gewebsform und der Wand des Hohlraumes zu beobachten war; z.T. jedoch lagen die Formen auf der Wand der Hohlräume unmittelbar an. An Hand der beschriebenen Stufenschnitte konnte festgestellt werden, daß die Wand dieser Hohlräume mit schmalen Zellen mit längsovalen Kernen ausgekleidet sind, wobei auf 6 - 8 Stufen ca. 3 - 4 Zellkerne angetroffen wurden, so daß auf ca. jeder 2. Stufe eine solche Zelle zur Darstellung kommt. Inwieweit diese Beobachtungen für eine Lagerung der Gewebsformen im Endothel der Gefäße sprechen, muß dahingestellt bleiben. Allgemein herrscht die Lehrmeinung, daß sich die Gewebsformen der Säugetierplasmodien ausschließlich im Parenchym der Leber entwickeln, während die Vogelplasmodien ihren Gewebszyklus im retikuloendothelialen System durchlaufen (GARNHAM, 1966).

Irgendwelche pathologischen Erscheinungen in der Umgebung der Gewebsformen waren nicht festzustellen, insbesondere keine Epithelveränderungen oder entzündlichen Infiltrate. Dies entspricht der allgemeinen Beobachtung, daß die intakte Gewebsform keine Reaktionen des umgebenden Lebergewebes hervorruft. In einer Reihe von Schnitten wurden jedoch frische, ca. 1 - 2 Tage alte Epithelnekrosen beobachtet. Diese fanden sich über die gesamte Schnittfläche verteilt und bestanden aus homogenisierten, z.T. verbackenen Epithelien. Die Nekrosen waren von wechselnder Größe, jedoch allgemein 3 - 4 mal so groß wie die parasitären Pseudozysten der Gewebsformen. Innerhalb der Nekrosen fanden sich hämotoxin-tingible kerntrümmerartige Gebilde umgeben von segmentkernigen Leukozyten. Letztere fanden sich auch in der unmittelbaren Umgebung der Nekrosen und innerhalb von benachbarten Kapillaren. Inwieweit diese miliaren Parenchymnekrosen mit dem Untergang von Gewebsformen in Beziehung zu bringen sind oder ob sie evtl. durch die Injektion von Begleitmaterial aus den Speicheldrüsen bzw. Mücken hervorgerufen wurden, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

DISKUSSION

In der Parasitologie spielen die spezifischen Wechselbeziehungen zwischen Wirt und Parasit eine bedeutsame und immer wieder faszinierende Rolle. Während auf der einen Seite der Parasit mit seinen spezifischen Anforderungen an den Wirt steht, die so ausgeprägt sein können, daß - wie z.B. bei der menschlichen Malaria - die Erreger auf den Menschen und die Hominiden beschränkt sind, steht auf der anderen Seite der Wirtsorganismus, der für die verschiedenen Erregerspezies eine durchaus unterschiedliche Empfänglichkeit zeigt. Wirtsspezifität eines Parasiten erschöpft sich aber nicht darin allein, daß eine besondere Parasitenart nur für ein bestimmtes Spektrum an Wirtstieren infektiös ist, sondern innerhalb einer Wirtstierspezies können die einzelnen Individuen durchaus von unterschiedlicher Empfänglichkeit für einen parasitären Organismus sein. Dies ist eine allgemein bekannte Tatsache für alle Infektionskrankheiten: bei einem Seuchenzug, sei er durch Bakterien, Viren oder Protozoen verursacht, werden nicht alle Personen gleichermaßen infiziert, es erkranken nicht alle Individuen und auch die Erkrankung selbst kann in den einzelnen Individuen durchaus verschiedenen Charakter und unterschiedliche Pathogenität zeigen (PIEKARSKY). Aus den drei Parametern, die die Parasit-Wirts-Wechselbeziehungen kennzeichnen, nämlich Infektiosität, Virulenz und Pathogenität, wurde bei der hier vorliegenden Untersuchung nur der erste, nämlich die Infektiosität einer Malariaart, Plasmodium berghei yoelii, für die Labormaus, betrachtet. Es sei hier noch bemerkt, daß dieses Plasmodium in den beiden untersuchten Mäusestämmen,

nämlich den NMRI-Orig./Kisslegg- und in den durch Selektion auf besondere Empfänglichkeit herausgezüchteten Mäusen der Generation F9 zwar eine unterschiedliche Infektiosität, aber eine annähernd gleiche Virulenz und Pathogenität entfaltete.

In beiden Mäusestämmen erreicht die Parasitämie die gleichen Werte und in beiden Mäusestämmen nahm die erfolgreiche Infektion einen chronischen Verlauf und endete nach einigen Wochen in der Regel mit einer Selbstheilung der Tiere (FINK, pers. Mit.).

Während die Wirtsspezifität der Plasmodien, insbesondere für die übertragenden Mücken, aber auch für die zu infizierenden warmblütigen Wirtstiere, seit der Entdeckung der Übertragung der Malaria durch Stechmücken die Aufmerksamkeit vieler Untersucher auf sich gezogen hat, ist die unterschiedliche Empfänglichkeit von Individuen ein und derselben Spezies bisher noch wenig Aufmerksamkeit geschenkt worden. Die in älteren Untersuchungen hauptsächlich verwendeten Laboratoriumsstämme von Vogelplasmodien sind für ein breiteres Spektrum von Wirtstieren infektiös. So lassen sich z.B. mit Plasmodium cathemerium eine ganze Reihe von Vögeln so unterschiedlicher Spezies wie z.B. Enten, Hühner und Kanarienvögel infizieren (GARNHAM, 1966). Auch das Nagetierplasmodium P. berghei zeigt ein breiteres Wirtsspektrum, als gemeinhin angenommen (GARNHAM, 1966). Es darf jedoch nicht übersehen werden, daß die meisten dieser Untersuchungen, bei denen die Empfänglichkeit verschiedener Wirtstiere geprüft wurde, mit sogenannter "Impfmalaria" durchgeführt wurde, d.h. durch Einbringen von parasitierten Erythrozyten. Dieser Infektionsmodus ist jedoch ein rein experimenteller und hat mit den

natürlichen Infektionswegen des Parasiten nichts gemein. Über die tatsächliche Potenz eines Erregers, verschiedene Wirtstiere zu infizieren, können bei der Malaria nur Versuche mit den eigentlichen Infektionsträgern, d.h. den Sporozoiten, Aufschluß geben.

Angesichts der großen Schwierigkeiten, denen man am Anfang bei der Übertragung von Nagetiermalaria sowohl hinsichtlich der Überträgermücken als auch der mit Sporozoiten zu infizierenden Laboratoriumstiere begegnete, hat man selbstverständlich bald nach Entdeckung des Erregers die verschiedensten Wirtstiere auf ihre Empfänglichkeit hin untersucht (BAFORT). MOST und Mitarbeiter konnten dabei zeigen, daß unterschiedliche Inzuchtmäusestämme eine unterschiedliche Empfänglichkeit für Plasmodium berghei besitzen. Da diese Untersucher jedoch kein abgestuftes Inokulum verwendeten, ist ein Vergleich der Empfänglichkeit der verwendeten Inzuchtmäusestämme untereinander quantitativ nicht möglich. Es zeigte sich nur, daß der Infektionserfolg als solcher insbesondere in den sogenannten JAX-Mäusen im Vergleich zu anderen Mäusestämmen besonders gut war.

Die von FINK im Biologischen Prüfungslaboratorium des Instituts für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Lehrstuhl für Angewandte Chemie, durchgeführten Versuche zur Herauszüchtung eines besonders empfänglichen Mäusestammes haben gezeigt, daß die Empfänglichkeit von Labormäusen für die Infektion mit Sporozoiten von Plasmodium berghei yoelii auf einer Eigenschaft beruht, die sich selektieren läßt. Die hier vorgelegten Untersuchungen mit auf Empfänglichkeit selektionierten Mäusen der Generation F9 haben im Vergleich mit den Orig.-NMRI-

Mäusen eine Steigerung der Empfänglichkeit für Sporozoiteninfektion um das 10 - 100fache ergeben. Durch Verwendung einer großen Zahl von Versuchstieren und durch die Infektion mit definierten, zahlenmäßig abgestuften Inokula war es möglich, für die einzelnen Versuche eine sogenannte mittlere infektiöse Dosis (ID 50) zu berechnen. Es zeigte sich, daß diese ID 50 von Versuch zu Versuch wechselte, und in einem Versuch auch geschlechtsspezifische Unterschiede in der Empfänglichkeit auftraten.

Die Standardisierung des Inokulum mit Sporozoiten begegnet deshalb so großen Schwierigkeiten, weil zwar in den hier vorgelegten Untersuchungen die Empfänger, d.h. die Mäuse, hinsichtlich Geschlecht, Alter, Ernährung und Haltungsbedingungen definiert werden konnten, sich jedoch Einflüsse, die von der Mücke auf die Sporozoiten ausgeübt werden, nicht mit absoluter Sicherheit ausschließen ließen. Zwar wurden die infizierten Mücken unter standardisierten Bedingungen gehalten, nachdem aber über die Möglichkeit, daß Faktoren von der Mücke ausgehen oder über die Mücke wirken, die die Infektiosität der Sporozoiten beeinflussen können, wenig bekannt ist, können solche Möglichkeiten auch nicht a priori ausgeschlossen werden. Es wurde versucht, derartige Einflüsse dadurch auszuschalten, daß bei allen Versuchen stets gleichzeitig Orig.-NMRI-Mäuse als Kontrollen parasitiert wurden.

Um die Frage, ob die Sporozoiten selbst von unterschiedlicher Infektionstüchtigkeit sind, oder ob die beobachtete unterschiedliche Infektiosität durch eine schwankende Empfänglichkeit der Wirtstiere bedingt ist,

wurden zusätzlich die histologischen Untersuchungen angestellt.

Bereits WERY hat versucht, durch quantitative Bestimmung der in der Leber zur Entwicklung gelangenden Gewebsformen Unterschiede in der Empfänglichkeit von 2 Mäusestämmen, BALB/C und Theiler Originalmäusen, zu bestimmen. Die Empfänglichkeit der ersten erschien größer, die Unterschiede in der Zahl der Gewebsformen jedoch sind nicht signifikant.

Denn auch seine Untersuchungen krankten daran, daß in den verschiedenen Versuchen kein einheitliches und abgestuftes Inokulum verwendet wurde und sich seine Befunde auf nur wenige Tiere stützten. Durch die Verbesserung in der Präparations- und Inokulationstechnik, die am Biologischen Prüfungslaboratorium des Instituts für Pharmazie und Lebensmittelchemie erreicht wurden, war die Infektiosität der Sporozoiten für die selektierten Mäuse derartig gesteigert worden, daß in der Regel 10 Sporozoiten ausreichten, um zu einem vollen Infektionserfolg zu führen. Der hohe Infektionserfolg, der gleichbedeutend ist mit einer nahezu 100 %igen Infektiosität der verabreichten Sporozoiten für diesen Mäusestamm, bedeutete aber auf der anderen Seite auch, daß selbst bei der Verabreichung von nur 10.000 - 20.000 Sporozoiten pro Maus ein so hoher Befall der Leber mit Gewebsformen erwartet werden konnte, daß Auszählung dieser Formen zu statistisch signifikanten Unterschieden bei unterschiedlicher Infektiosität der Sporozoiten führen mußte.

Die Unterschiede in der Infektiosität der Sporozoiten, die in den Versuchen, die in den Tabellen 1 - 3 festgehalten sind, können andererseits nur durch eine unterschiedliche Empfänglichkeit der verschiedenen Mäusestämme erklärt werden, da auf der einen Seite bereits 3 - 4 Sporozoiten genügten, um die Hälfte der herausgezüchteten Mäuse zu einer Infektion zu führen, während auf der anderen Seite die Orig.-NMRI-Mäuse im Durchschnitt mit 160 Sporozoiten inokuliert werden mußten, um zu einem vergleichbaren Infektionserfolg zu gelangen.

Ehe nach den Ursachen einer derartig unterschiedlichen Empfänglichkeit äußerst nahe verwandter Mäuselinien gefahndet werden kann, muß zunächst die Frage geklärt werden, ob die inokulierten Sporozoiten überhaupt in die Leber der Versuchstiere gelangen, oder ob sie in den weniger empfänglichen Tieren bereits auf dem Weg zur Leber, z.B. durch Phagozytose aus dem Blutstrom entfernt werden, oder ob die Sporozoiten zwar zu gleichem Prozentsatz in die Leber gelangen, in den weniger empfänglichen Tieren aber ein geringerer Prozentsatz die Entwicklung erfolgreich beenden kann. Die histologischen Untersuchungen, die an insgesamt sechs mit 20.000 Sporozoiten pro Maus parasitierten Versuchstieren, vier Tieren der Generation F9 und 2 Orig.-NMRI-Mäusen, angestellt wurden, sprechen dafür, daß beide Möglichkeiten eine Rolle spielen. Nach der Zahl der Leberformen kamen in den F9-Tieren im Durchschnitt 3 - 4mal so viele Sporozoiten zur Entwicklung wie in den Orig.-NMRI-Mäusen. Zusätzlich zeigte aber ein Großteil (33 bzw. 63 %) der in den NMRI-Mäusen aufgefundenen Gewebsformen Degenerationszeichen, die darauf hindeuten, daß diese Parasiten ihre Entwicklung nicht mit Erfolg vollendet hätten.

Werden diese Formen bei einem Vergleich des Infektions-
erfolgs als nicht zu erfolgreicher Entwicklung kommend
abgezogen, so kommen wir zu dem Ergebnis, daß im Durch-
schnitt 6 - 7mal mehr Sporozoiten in diesem Versuch
ihre Entwicklung in den F9-Mäusen erfolgreich beenden
konnten. Dies entspricht in der Größenordnung der über
die Bestimmung der mittleren Infektionsdosis ermittel-
ten Differenz in der Empfänglichkeit der beiden Mäuse-
stämme.

Nachdem im histologischen Schnitt nur jene Formen er-
kannt werden können, die zu einer Größe herangewachsen
sind, die wesentlich über der einer Leberparenchymzelle
liegt, läßt sich nicht ausschließen, daß eine größere
Anzahl von Sporozoiten zwar die Entwicklung in der Leber-
parenchymzelle begonnen hat, aber nicht bis zu einer
erkennbaren Größe fortsetzen konnte. Die Frage, ob in
den weniger empfänglichen Mäusen ein Teil der Spor-
ozoiten durch erhöhte Phagozytose bereits auf dem Weg
zur Leber aus dem Kreislauf entfernt wurde, muß daher
offen bleiben.

Die Frage, welche Faktoren für die höhere Empfänglich-
keit der herausgezüchteten Mäuse verantwortlich sein
könnten, ist von hohem Interesse im Hinblick auf eine
mögliche Prophylaxe der Malaria. Sie kann aber aufgrund
der hier vorgenommenen Untersuchungen nicht beantwortet
werden. Beim gegenwärtigen Wissensstand muß jeder Ver-
such einer Erklärung spekulativen Charakter haben. Ich
möchte hier nur darauf hinweisen, daß sich bei den histo-
logischen Untersuchungen gezeigt hat, daß auch unter den
Orig.-NMRI-Mäusen Tiere sein können, die zunächst eine

gleich hohe Empfänglichkeit wie die selektionierten F9-Tiere zeigen, wie das Ergebnis der Zählung der Gewebsformen der Maus 39 Sc 2 (Tabelle 4) gezeigt hat. Andererseits finden sich auch innerhalb der Mäuse der F9-Generation erhebliche Unterschiede in der Zahl der entwickelten Gewebsformen, wenn wir z.B. die Mäuse 39 Sc 7 und 39 Sc 24 (Tabelle 4) miteinander vergleichen. Offensichtlich ist es durch die Selektion nur gelungen, den Anteil der Tiere, die diese bei den Orig.-NMRI-Mäusen vorhandene Eigenschaft besitzen, zu erhöhen und in besonderem Maße zu festigen. Die Klärung der Frage, um welche Eigenschaften es sich dabei letztendlich handelt, lag nicht im Bereich der hier vorgelegten Arbeit und muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Seit der Entdeckung von Plasmodium berghei yoelii (LANDAU und KILLICK-KENDRICK, 1966) ist es möglich, die Malariaerkrankung auch auf kleine Labortiere wie Maus und Ratte zu übertragen. Vorher war die Malariaforschung auf Vogelmalariaerreger angewiesen. da die Malariaerkrankung des Menschen durch Erreger hervorgerufen wird (Plasmodium malariae, Plasmodium vivax, Plasmodium falciparum), die sich nur auf Hominiden und einige Umweltaffen übertragen lassen.

In den letzten Jahren gelang es auch in Erlangen nach Kenntnis der optimalen exogenen Faktoren, die zyklische Übertragung von Nagetiermalaria durch Mücken bzw. mit den sich in diesen entwickelnden Sporozoiten unter standardisierten Bedingungen im Labor durchzuführen. Als entscheidender Faktor hat sich hierbei die Selektion eines Mäusestammes von besonderer Empfänglichkeit im Biologischen Prüfungslaboratorium des Instituts für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Erlangen-Nürnberg erwiesen. Diese höhere Empfänglichkeit der aus NMRI/Kisslegg-Mäusen herausgezüchteten Tiere wurde über die mittlere infektiöse Dosis (ID 50), d.h. jener Sporozoitenzahl, die notwendig ist, um bei der Hälfte der Versuchstiere mit hoher Wahrscheinlichkeit (95 %) eine Infektion hervorzurufen, ermittelt. Als Merkmal einer erfolgreichen Infektion wurde das Auftreten von erythrozytären Formen des Parasiten im peripheren Blut verstanden.

Aus den 3 Parametern, die die Parasit- Wirts- Wechsel-
beziehung kennzeichnen, nämlich Infektiosität, Viru-
lenz und Pathogenität, wurde für die hier vorliegenden
Untersuchungen nur die Infektiosität von Plasmodium
berghei yoelii für die NMRI-Orig.-Kisslegg-Mäuse und
die durch Selektion auf besondere Empfänglichkeit her-
ausgezüchteten Mäuse der Generation F9 untersucht. Es
sei jedoch hier noch bemerkt, daß für beide Stämme eine
gleiche Virulenz und Pathogenität beobachtet werden
konnte.

Die hier vorgelegten Untersuchungen mit auf Empfänglich-
keit selektionierten Mäusen der Generation F9 haben im
Vergleich mit den Orig.-NMRI-Mäusen eine Steigerung
der Empfänglichkeit für Sporozoiteninfektion um das
10 - 100fache ergeben. Um die Frage zu klären, ob die
Sporozoiten selbst von unterschiedlicher Infektions-
tätigkeit sind, oder ob die beobachtete unterschied-
liche Infektiosität durch eine schwankende Empfänglich-
keit der Wirtstiere bedingt ist, wurden zusätzlich die
histologischen Untersuchungen angestellt.

In der Regel reichten 10 Sporozoiten aus, um bei den
selektionierten Mäusen zu einem vollen Infektionserfolg
zu kommen. Da dieser hohe Infektionserfolg nahezu einer
100 % Infektiosität der verabreichten Sporozoiten für
diesen Mäusestamm bedeutete und auf der anderen Seite
die Orig.-NMRI-Mäuse im Durchschnitt mit 160 Sporo-
zoiten inokuliert werden mußten, um zu einem vergleich-
baren Infektionserfolg zu gelangen, war bewiesen, daß
die unterschiedliche Infektionität durch die Wirtstiere
bedingt ist.

Diese unterschiedliche Empfänglichkeit wirft die Frage
auf, ob die inokulierten Sporozoiten überhaupt in die

Leber der Versuchstiere gelangen, oder ob sie in den weniger empfänglichen Tieren bereits auf dem Weg zur Leber, z.B. durch Phagozytose aus dem Blutstrom entfernt werden, oder aber ob die Sporozoiten zwar zum gleichen Prozentsatz in die Leber gelangen, in den weniger empfänglichen Tieren aber ein geringerer Teil die Entwicklung erfolgreich beenden kann. Daher wurde einzelnen Tieren aus beiden Gruppen, (d.h. des relativ resistenten und des relativ empfänglichen Mäusestammes) eine sehr hohe Zahl von Sporozoiten verabreicht, um zu einer nachweisbaren Zahl von Gewebsformen zu gelangen. Vor Ablauf der exoerythrozytären Phase wurden die Lebern entnommen und untersucht. Die histologischen Untersuchungen sprechen dafür, daß beide Möglichkeiten eine Rolle spielen. Nach der Zahl der Leberformen kommen in den selektionierten F9-Tieren 3-4mal so viele Sporozoiten zur Entwicklung wie in den Orig.-NMRI-Mäusen. Zusätzlich zeigte aber ein Großteil der in den NMRI-Mäusen aufgefundenen Gewebsformen Degenerationszeichen, die darauf hindeuten, daß diese Parasiten ihre Entwicklung nicht mit Erfolg beendet hatten.

Die Frage der erhöhten Phagozytose aus der Blutbahn bei den weniger empfänglichen Mäusen als auch die Frage, welche Faktoren die höhere Empfindlichkeit erklären können, kann aufgrund der hier vorgenommenen Untersuchungen nicht beantwortet werden.

Tabelle 1:

Empfänglichkeit verschiedener Mäusestämme für die
Infektion von Plasmodium berghei yoelii mit Sporozoiten

Versuch 266/2	Inokulum (Spor./Maus)			infective units (Vertrauensbe- reich für 95 % Wahrscheinlichkeit)
	10	3	1	

	Infektionserfolg ⁺			
F9 männlich	12/13	10/14	11/15	1.98 (1.14 - 2.83)
F9 weiblich	7/8	2/9	4/9	4.97 (2.03 - 7.91)
F9 insgesamt	19/21	12/23	15/24	2.90 (1.90 - 3.90)

	Inokulum (Spor./Maus)		
	1.000	100	10

	Infektionserfolg ⁺			
NMRI-Orig.				
Kisslegg				
weiblich	7/8	3/8	1/10	338 (96 - 580)

⁺ Tiere parasitiert / Tiere inokuliert

Tabelle 2:

Empfänglichkeit verschiedener Mäusestämme für die
Infektion von Plasmodium berghei yoelii mit Sporozoiten

Versuch 266/14	Inokulum (Spor./Maus)				infective units
	10	3	1	0.3	(Vertrauensbereich für 95 % Wahrscheinlichkeit

	Infektionserfolg ⁺				
F9 männlich	4/6	5/8	1/8	1/8	5.40 (2.1 - 8.8)
F9 weiblich	5/7	4/7	1/7	3/8	4.60 (1.9 - 7.2)
F9 insgesamt	9/13s	9/15	2/15	4/16	4.96 (2.85- 7.08)

	Inokulum (Spor./Maus)		
	1.000	100	10

	Infektionserfolg ⁺			
NMRI-Orig.				
Kisslegg				
weiblich	8/8	6/8	4/8	45.8 (14.2 - 77.4)

⁺ Tiere parasitiert / Tiere inokuliert

Tabelle 3:

Empfänglichkeit verschiedener Mäusestämme für die
Infektion von Plasmodium berghei yoelii mit Sporozoiten

Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche 266/2 und -14

Inokulum (Spor./Maus)				infective units
10	3	1	0.3	(Vertrauensbereich für 95 % Wahrscheinlichkeit

	Infektionserfolg ⁺				
F9 männlich	16/19	15/22	12/23	1/8	3.0 (2.0 - 4.0)
F9 weiblich	12/15	6/16	5/16	3/8	4.8 (2.8 - 6.7)
F9 insgesamt	28/34	21/38	17/39	4/16	3.7 (2.7 - 4.6)

Inokulum (Spor./Maus)			
1.000	100	10	

	Infektionserfolg ⁺			
NMRI-Orig.				
Kisslegg				
weiblich	15/16	9/16	5/18	159 (78 - 240)

⁺ Tiere parasitiert / Tiere inokuliert

Tabelle 4:

Empfänglichkeit verschiedener Mäusestämme für die Infektion von Plasmodium berghei yoelii mit Sporozoiten

Entwicklung von Gewebsformen nach intravenöser Inokulation von
20.000 Sporozoiten pro Maus

Mäuse- stamm	Maus-Nr.	Schnitte (N)	Gewebsformen (N)	Gewebsformen degeneriert (N)	%	Gewebsformen/Schnitt insgesamt ohne degenerative Formen
F9	39 Sc 4	70	33	3	9	0,47
	39 Sc 7	84	85	3	3.5	1,01
	39 Sc 24	23	7	0	0	0,30
	39 Sc 25	68	32	3	9.3	0,47
		245	157	9	5.7	0,64
NMRI/ Orig.	39 Sc 1	24	9	3	33	0,37
	39 Sc 2	70	8	5	63	0,11
		94	17	8	47	0,18
						0,09

Literaturverzeichnis

BAFORT, J. (1971):

The biology of rodent malaria with particular reference to *Plasmodium vinckei vinckei* Rodhain 1952.

Ann Soc. Belg. Med. Trop. 51, 1-204

CAVALLI-SFORZA, L. (1974):

Biometrie.

Gustav Fischer, Stuttgart

FINK, E. (1970):

Die quantitative Bestimmung der Wirkung exogener und endogener Faktoren auf Sporozoiten und Gewebsformen der Kleintiermalaria (*Plasmodium cathemerium*, *P. berghei yoelii*).

Zschr. Tropenmed. Parasit. 21, 357-372

GARNHAM, P.C.C. (1966):

Malaria parasites and other haemosporidia.

Blackwell Scientific Publications, Oxford

GARNHAM, P.C.C. (1971):

Comp. Rendus 1^{er} Multicolloque europeen de parasitologie, Rennes, 1-4 septembre 1971, 209-211

LANDAU, I., R. KILLICK-KENDRICK (1966):

Rodent plasmodia of the Republique centrafricaine: the sporogony and tissue stages of *Plasmodium chabaudi* and *P. berghei yoelii*.

Trans R. soc. Trop. Med. Hyg. 60, 633-649

MOST, H., R.S. NUSSENZWEIG, J. VANDERBERG, R. HERMAN,

M. YOELI (1966):

Susceptibility of genetically standardized (JAX) mouse strains to sporozoite - and blood - induced *Plasmodium berghei* infections.

Milit. Med. 131 (Suppl.), p15-918

- NAUCK, E.G. (1975):
Lehrbuch der Tropenkrankheiten.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- PIEKARSKY, G. (1954):
Lehrbuch der Parasitologie.
Springer, Berlin
- ROMEIS, B. (1968):
Mikroskopische Technik.
R. Oldenburg Verlag, München-Wien
- VANDERBERG, J.P., M. YOELI (1966):
Effects of teperature on sporogonic
development of Plasmodium berghei.
J. Parasit. 52, 559-564
- VANDERBERG, J.P., R.S. NUSSENZWEIG, H. MOST (1968):
Further studies on the Plasmodium Berghei -
Anopheles stephensi - rodent system of
mammalian malaria.
J. Parasit. 54, 1009-1016
- VINCKE, I.H., M. LIPS (1948):
Un nouveau Plasmodium d'un rongeur sauvage
du Congo, Plasmodium berghei n. sp.
Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 28, 97-104
- WERY, M. (1968):
Studies on the sporogony of rodent malaria
parasites.
Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 48, 3-138



Abb. 1: 2 Gewebsformen innerhalb des Leberparenchyms
() im Übersichtsbild.
Paraffin- und Giemsaefärbung

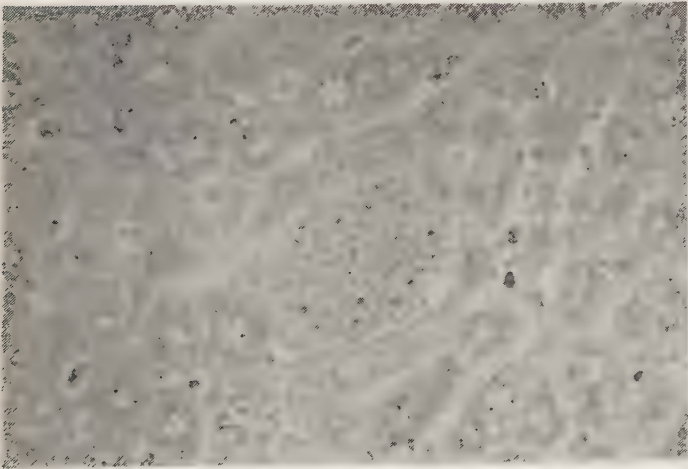


Abb. 2: Gewebsformen einer Plasmodium berghei yoelii
Malaria bei starker Vergrößerung mit zahl-
reichen Verklumpungen.
Paraffin- und Giemsaefärbung

L e b e n s l a u f

Ich, Peter-Michael Brunner, bin am 22.6.1952 in Weiden/Obpf. geboren, als Sohn des Kaufmanns Paul Brunner und seiner Ehefrau Helga, geborene Künzel.

Von 1959 bis 1963 besuchte ich die Volksschule (Bielingschule) in Nürnberg. 1963 trat ich in das Willstättergymnasium in Nürnberg ein, wo ich 1972 meine Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1973 begann ich mit dem Studium der Humanmedizin in Erlangen an der Friedrich-Alexander-Universität, wo ich im April 1975 die Ärztliche Vorprüfung und Juni 1979 das Staatsexamen erfolgreich bestand.

Meine Approbation als Arzt erhielt ich am 1. Juni 1979.

Seit 1. Juni 1979 bin ich als Assistenzarzt an der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Sulzbach-Rosenberg beschäftigt.

Copy-Center 2000

852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197